M. Guignard fait à la Société la communication suivante :

OBSERVATIONS SUR LA STRUCTURE ET LA DIVISION DU NOYAU DANS LES CELLULES-MÈRES DU POLLEN DES CYCADÉES

par **M. Léon GUIGNARD.**

Dans un travail paru en 1882 (1), M. Juranyi a signalé, chez le *Ceratozamia longifolia*, une exception au processus normal de la karyokinèse, que M. Carnoy dit avoir rencontrée aussi chez d'autres plantes (2). Ayant rassemblé les matériaux nécessaires pour examiner la formation du pollen dans les *Cycas*, *Zamia* et *Ceratozamia*, j'ai tenu à contrôler l'exactitude des observations précédentes. Mon attention a été attirée en même temps sur une question plus générale et très intéressante, concernant la structure du noyau au repos, étudiée à nouveau l'an dernier par M. Strasburger (3).

La division indirecte du noyau ou karyokinèse présente, comme on sait, une série de phénomènes qui se succèdent dans un ordre déterminé. Le plus important consiste en ce que les segments chromatiques, qui apparaissent distincts, à un moment donné, dans le noyau, se dédoublent suivant leur longueur chacun en deux moitiés égales, qui se séparent l'une de l'autre, au stade de la plaque nucléaire, formée à l'équateur du fuseau achromatique, pour se diriger en sens inverses vers les deux pôles du fuseau, où elles vont concourir à la constitution des deux nouveaux noyaux. Le dédoublement longitudinal de chacun des segments chromatiques peut avoir lieu longtemps avant la formation de la plaque nucléaire, mais les deux moitiés parallèles restent accolées l'une à l'autre jusqu'à ce stade ; il en est ainsi, par exemple, dans les cellules-mères du pollen du *Lilium*, de l'*Allium*, etc., et aussi dans les cellules de divers tissus chez la Salamandre, etc. ; la séparation définitive des deux moitiés de chaque segment n'a lieu qu'après la constitution de la plaque nucléaire à l'équateur du fuseau. Par rapport aux cas où le dédoublement longitudinal n'apparaît qu'au stade de la plaque nucléaire, la différence consiste simplement, ici, en une préparation plus hâtive du phénomène de scission.

Pour M. Juranyi, la bipartition nucléaire n'offrirait pas la marche ordi-

(1) *Beobachtungen über Kerntheilung* (*Sitzungsber. der ungarischen Acad. d. Wiss.* 1882, p. 70).
(2) *La Cytodiérèse chez les Arthropodes* (*La Cellule*, t. I, 1884, p. 332).
(3) *Sur la division des noyaux cellulaires, la division des cellules et la fécondation* (*Journal de Botanique*, mars 1888).— *Ueber Kern- und Zelltheilung im Pflanzenreiche*, 1888.

naire dans les cellules-mères de pollen du *Ceratozamia*. En comparant l'épaisseur et le nombre des segments chromatiques avant la formation de la plaque nucléaire et au stade de cette dernière, il pense que le dédoublement longitudinal des segments aurait lieu surtout après leur arrivée aux pôles, et non, comme c'est la règle générale, au stade de la plaque nucléaire. S'il en était réellement ainsi, chacun des nouveaux noyaux ne comprendrait que la moitié du nombre total des segments de la plaque nucléaire. M. Carnoy aurait constaté un dédoublement au même stade dans le sac embryonnaire du *Paris quadrifolia*, du *Maianthemum bifolium*, et dans le périanthe du *Lilium*.

Le second point sur lequel je désire attirer l'attention a trait à la question de savoir si la charpente du noyau au repos est formée par un filament chromatique unique, continu, comme l'ont admis la plupart des observateurs jusqu'au récent mémoire de M. Strasburger, ou bien si, comme le pense aujourd'hui cet éminent botaniste, elle est constituée, au contraire, par des segments toujours libres, distincts, mais dont la longueur et les replis nombreux et variés empêcheraient de distinguer les extrémités libres dans le noyau au repos.

Les raisons qui militent en faveur de cette dernière opinion sont les suivantes.

Dans les cellules-mères du pollen des plantes chez lesquelles le nombre des segments chromatiques peut être compté avec certitude au stade de la plaque nucléaire, ce nombre semble fixe pour une espèce donnée (1). Ainsi, on en trouve 12 dans le *Lilium*, 8 dans l'*Allium* et l'*Alstrœmeria*, 16 dans le *Listera ;* le nombre 12 s'observe également dans le noyau de la cellule femelle, c'est-à-dire de l'oosphère, chez plusieurs espèces de *Lilium*, les seules où j'aie pu les compter pendant la formation de l'appareil sexuel femelle au sommet du sac embryonnaire. De son côté, M. Strasburger avait observé une semblable fixité et, dans son récent travail (2), il retrouve également 12 segments dans les cellules-mères de pollen du *Tradescantia*, de l'*Helleborus fœtidus*, du *Chlorophyton Sternbergianum*. D'autre part, comme le nombre observé dans les cellules-mères se maintient, par le fait même du dédoublement longitudinal, toujours le même dans les divisions ultérieures et par suite jusque dans le noyau générateur qui doit pénétrer dans l'oosphère, il en résulte que pour le *Lilium*, par exemple au moment de la fécondation, le noyau mâle se mélange au noyau femelle à nombre égal de bâtonnets chromatiques.

(1) L. Guignard, *Recherches sur la structure et la division du noyau cellulaire* (*Ann. des sc. nat.* Bot., p. 40, 1884).

(2) *Ueber Kern- und Zelltheilung*, p. 51, 1888.

On entrevoit l'intérêt de ce dernier fait, si l'on remarque que c'est seulement dans les cellules sexuelles, mâles et femelles, que paraît exister cette fixité, car dans les cellules purement végétatives et même dans celles de la jeune anthère qui donnent naissance aux cellules-mères de pollen, ainsi que dans le nucelle de l'ovule avant la formation de l'appareil sexuel, le nombre des segments chromatiques varie dans les noyaux. Pour le *Lilium*, en particulier, il résulte des observations de M. Strasburger (1) et des miennes, tant anciennes (2) que récentes, que ce nombre est fréquemment de 16, et en tout cas supérieur à celui que présentent les cellules sexuelles. Comment se fait la réduction de nombre et comment s'établit sa fixité dans ces dernières cellules? C'est une question à traiter ultérieurement. En tout cas, M. Strasburger a été conduit à cette conclusion, que les segments doivent être libres même dans le noyau au repos, ce qui, au premier abord, semble en effet beaucoup plus admissible que l'existence d'un filament unique. Pour démontrer qu'il en est réellement ainsi, il a eu recours à l'emploi de l'eau de Javelle. En modérant l'action dissolvante de ce réactif, il a vu, dans les noyaux au repos des cellules-mères de pollen du *Lilium* et de l'*Allium* notamment, les segments chromatiques séparés les uns des autres et par suite non soudés en un filament unique (3).

Voici maintenant les résultats auxquels je suis arrivé sur les divers points qui viennent d'être mentionnés, en examinant principalement le *Ceratozamia mexicana*. Pour suivre l'ordre naturel des choses, j'indiquerai d'abord la structure du noyau au repos dans les cellules-mères de pollen, ce qui me permettra de mettre en regard des faits observés par M. Strasburger ceux que m'a fournis l'étude du *Ceratozamia*, puis la marche de la division nucléaire, ce qui montrera qu'elle n'a pas lieu comme M. Juranyi l'a pensé.

Le noyau au repos, fixé dans son aspect normal et coloré à l'aide de réactifs appropriés et surtout de l'hématoxyline, offre une charpente chromatique dans laquelle on distingue des replis délicats et fort nombreux, enchevêtrés les uns avec les autres, à tel point qu'il n'est pas possible de les suivre dans leur trajet et de décider s'ils sont formés par des segments libres et indépendants dans la masse pelotonnée. Même lorsqu'ils ont commencé à se contracter et à s'épaissir, au moment où la division du noyau se prépare, les replis, également répartis, ne permettent pas de résoudre la question. Mais, en employant comme agent fixateur, l'alcool un peu étendu, je suis arrivé à contracter et à refouler sur l'un des

(1) *Ueber Kern-und Zelltheilung*, p. 45, 1888.
(2) *Nouvelles recherches sur la structure et la division du noyau*, p. 335, 1885.
(3) *Ueber Kern-und Zelltheilung*, p. 35 et suiv.

côtés du noyau, contre sa membrane, une partie du peloton chromatique, tandis que l'autre partie étendait ses replis dans le reste de la cavité nucléaire. Dans cette dernière, par conséquent, le peloton se trouvait beaucoup plus lâche. Or j'ai pu suivre parfois ses replis sans apercevoir de bouts libres, et leur continuité m'a paru évidente. En supposant qu'il y eût réellement des segments distincts et que toutes leurs extrémités se fussent accolées aux replis situés dans leur voisinage, cet accolement aurait donné naissance à un reticulum et non à un filament unique et continu. Je n'ai pas constaté l'existence d'un semblable reticulum.

D'autre part, en suivant les phases de la division, j'ai trouvé 8 segments chromatiques à la plaque nucléaire dans tous les noyaux des cellules-mères de pollen du *Ceratozamia*. Par conséquent, si ces segments préexistaient dans le noyau au repos, le nombre de leurs bouts libres serait de 16, et puisque la partie du peloton qu'il était possible de suivre dans ses replis représentait, dans la plupart des cas, plus de la moitié de la masse totale du noyau, un certain nombre de ces bouts libres auraient dû s'y trouver. Parfois, il est vrai, j'en ai aperçu un ou deux. Mais il faut remarquer, d'une part, que l'action du réactif pouvait avoir occasionné en un ou plusieurs points la rupture du filament chromatique, pendant le refoulement partiel qu'il déterminait dans le peloton nucléaire, et d'autre part, qu'il est possible que le peloton soit formé par un simple filament, ayant par conséquent deux extrémités libres, et non par un anneau véritable. En outre, la présence d'une ou de deux extrémités libres pouvait aussi s'expliquer par un commencement de segmentation du filament, puisque ce dernier avait commencé à se contracter, les noyaux étudiés étant entrés dans la première phase de la division.

Au total, il me semble que l'observation actuelle, faite dans des conditions aussi bonnes que possible, puisqu'il n'y avait pas à craindre l'action assez difficile à modérer d'un réactif dissolvant, fournit un argument sérieux en faveur de l'existence d'un filament chromatique unique dans le noyau au repos, tout au moins chez les cellules-mères de pollen du *Ceratozamia*.

En ce qui concerne la division elle-même, et par suite les faits signalés par M. Juranyi, j'ai obtenu les résultats suivants.

Quelque temps après avoir commencé à se contracter et à s'épaissir, le filament du noyau de la cellule-mère de pollen laisse voir deux séries de granulations chromatiques, au lieu d'une seule, et les premiers indices d'un dédoublement longitudinal. Ce dernier est très manifeste quand la segmentation transversale a eu lieu, et parfois les deux moitiés parallèles de chaque segment primaire s'écartent notablement l'une de l'autre. Toutefois, elles ne se séparent pas définitivement, et comme la contraction continue à se faire pour chacune d'elles, elles se montrent

même dans la suite plus rappprochées et soudées l'une à l'autre. Les segments primaires, comme on l'a vu, sont au nombre de 8. Ils se disposent bientôt en une plaque nucléaire à l'équateur du fuseau achromatique qui a pris naissance; puis, dans chacun d'eux, les deux moitiés parallèles formées par dédoublement se séparent, en se dirigeant, comme à l'ordinaire, en sens opposés, chacune vers les deux pôles du fuseau. Il est facile de voir alors que l'épaisseur des segments secondaires est moitié moindre que celle des segments primaires : par conséquent l'anomalie signalée au stade de la plaque nucléaire par M. Juranyi n'existe pas. De même, les segments secondaires arrivés au pôle ne m'ont jamais offert le dédoublement admis par cet observateur; ils se contractent fortement en s'accolant les uns aux autres, sans doute pour donner naissance au filament nucléaire dont la continuité me paraît, comme on l'a vu plus haut, vraisemblable pour le *Ceratozamia.*

Les deux nouveaux noyaux se divisent à leur tour et avec les mêmes caractères, puis les quatre jeunes grains de pollen se séparent. Dans chacun de ces grains pourvu d'un gros noyau, de nouvelles divisions se produisent pour former deux petites cellules qu'on a considérées comme un prothalle mâle réduit, inclus dans la grande cellule du grain de pollen, dont le noyau passera seul dans le tube pollinique à la germination. Dans chacune de ces divisions, j'ai retrouvé huit segments à la plaque nucléaire. Ces deux petites cellules ne sont pas sœurs l'une de l'autre, mais produites successivement par la bipartition deux fois répétée du noyau primitif du pollen. Ce fait, aperçu par M. Juranyi, a été retrouvé par M. Strasburger dans les grains de pollen de plusieurs Conifères (1). La petite cellule formée la première a la forme d'une lentille plan-convexe appliquée par sa face plane contre la paroi du grain de pollen; la seconde cellule, plus épaisse, appuie sa membrane d'enveloppe en forme de verre de montre sur la cloison qui la sépare de la première. M. Juranyi a vu se former trois petites cellules dans le *Ceratozamia longifolia;* je n'en ai pas trouvé plus de deux dans le *C. mexicana*, mais il est possible qu'il en naisse parfois trois.

Les divisions successives présentent une orientation et un aspect particuliers, dont j'aurai bientôt l'occasion de donner des figures. En raison même de l'ordre dans lequel elles sont produites, les deux petites cellules ne peuvent plus guère être considérées comme un prothalle rudimentaire; elles rappellent plutôt, suivant l'opinion de M. Strasburger, les cellules ou les noyaux éliminés, comme les globules polaires des animaux, pendant la différenciation des noyaux générateurs.

(1) *Neue Untersuch. über den Befruchtungsvorgang bei den Phanerogamen*, p. 2, 1885.

J'ajouterai, enfin, que dans les plantes mêmes étudiées par M. Carnoy, je n'ai pas retrouvé les anomalies dont il a été question. Toutefois, ce serait aller trop loin que de nier leur possibilité, en présence des observations de M. Flemming sur les spermatocytes de la Salamandre, où cet habile observateur a signalé, à côté de la karyokinèse normale, une modification analogue à celles que j'ai recherchées sans succès et qu'il désigne sous le nom de « forme hétérotypique ». Dans ces spermatocytes, les segments secondaires, destinés à former les nouveaux noyaux, sont au nombre de douze pour chacun de ces derniers; dès leur arrivée aux pôles du fuseau, ils offrent un dédoublement longitudinal. Ce fait, parfaitement établi, constitue un cas tout particulier, dont la fréquence varie suivant l'époque où se développent les spermatozoïdes de la Salamandre (1).

Dans le *Ceratozamia*, le dédoublement longitudinal porte sulement sur les segments primaires, au moment où le noyau commence à entrer en division, ce qui est tout diflérent. MM. E. Van Beneden et Van Neyt (2) disent avoir vu parfois, pendant la reconstitution des noyaux de l'œuf de l'Ascaride megalocéphale en voie de segmentation, un dédoublement longitudinal des segments secondaires ; mais M. Boveri révoque en doute cette observation (3). En tout cas, ce phénomène serait tout-à-fait accidentel et, comme le fait remarquer M. Strasburger (4), sa signification resterait énigmatique.

M. Bonnier demande pourquoi, d'après M. Guignard, on ne devrait pas considérer comme prothalle les petites cellules du pollen des Gymnospermes.

M. Guignard répond que ces cellules dérivent de la division successive d'un même noyau, qui est le noyau primitif du grain de pollen.

(1) *Neue Beiträge zur Kenntniss der Zellen Archiv f. mik. Anat.* t. XIX, pp. 414, 442).

(2) *Nouvelles recherches sur la fécondation et la division mitosique chez l'Ascaride mégalocéphale*, p. 46, 1887.

(3) *Ueber Differenzirung der Zellkerne während der Furchung der Eies von Ascaris megalocephala* (*Anat. Anzeiger*, p. 689, 1887).

(4) *Ueber Kern-und Zelltheilung*, p. 58.